

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

In re application of :
Nobuhiko YUI et al. :
Serial No. NEW : **Attn: APPLICATION BRANCH**
Filed April 22, 2004 : Attorney Docket No. 2004-0610A
DEGRADABLE GEL AND METHOD
FOR PRODUCING THE SAME :

CLAIM OF PRIORITY UNDER 35 USC 119

Commissioner for Patents
P.O. Box 1450
Alexandria, VA 22313-1450

THE COMMISSIONER IS AUTHORIZED
TO CHARGE ANY DEFICIENCY IN THE
FEE FOR THIS PAPER TO DEPOSIT
ACCOUNT NO. 23-0975.

Sir:

Applicants in the above-entitled application hereby claim the date of priority under the International Convention of Japanese Patent Application No. 2003-122860, filed April 25, 2003, as acknowledged in the Declaration of this application.

A certified copy of said Japanese Patent Application is submitted herewith.

Respectfully submitted,

Nobuhiko YUI et al.

By:



Michael R. Davis

Registration No. 25,134

Attorney for Applicants

MRD/pth
Washington, D.C. 20006-1021
Telephone (202) 721-8200
Facsimile (202) 721-8250
April 22, 2004



日 本 国 特 許 庁
JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日
Date of Application: 2 0 0 3 年 4 月 2 5 日

出 願 番 号
Application Number: 特 願 2 0 0 3 - 1 2 2 8 6 0
[ST. 10/C]: [J P 2 0 0 3 - 1 2 2 8 6 0]

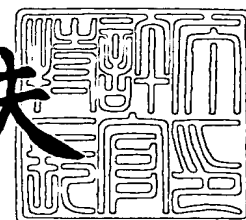
出 願 人
Applicant(s): チ ッ ソ 株 式 会 社
由 井 伸 彦



2 0 0 4 年 3 月 1 日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

今 井 康 夫



【書類名】 特許願

【整理番号】 780003

【提出日】 平成15年 4月25日

【あて先】 特許庁長官殿

【国際特許分類】 A61K 9/52

【発明者】

 【住所又は居所】 石川県能美郡辰口町松が岡 4 - 1 0 3

 【氏名】 由井 伸彦

【発明者】

 【住所又は居所】 石川県石川郡鶴来町明島町タ 1 0 8 - 1

 【氏名】 大谷 亨

【発明者】

 【住所又は居所】 石川県石川郡野々市町三納 5 7 0

 【氏名】 名嘉真 剛

【発明者】

 【住所又は居所】 神奈川県横浜市金沢区大川 5 - 1 チッソ株式会社 横
 浜研究所内

 【氏名】 佐藤 郁夫

【発明者】

 【住所又は居所】 神奈川県横浜市金沢区大川 5 - 1 チッソ株式会社 横
 浜研究所内

 【氏名】 河端 良二

【特許出願人】

 【代表出願人】

 【識別番号】 000002071

 【氏名又は名称】 チッソ株式会社

 【代表者】 後藤 舜吉

 【電話番号】 03-3534-9826

【特許出願人】

【識別番号】 594173175

【氏名又は名称】 由井 伸彦

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 012276

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 分解性ゲル及びその製造法

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 飽和含水率が 98 重量%以下である分解性ゲル。

【請求項 2】 分解性ゲルが、多糖ゲルである請求項 1 記載の分解性ゲル。

【請求項 3】 多糖ゲルが、アニオン性多糖ゲルである請求項 2 記載の分解性ゲル。

【請求項 4】 アニオン性多糖ゲルが、ヒアルロン酸ゲルである請求項 3 記載の分解性ゲル。

【請求項 5】 分解性ゲルが、架橋剤を用いた架橋反応によって得られるゲルである請求項 1～4 のいずれか 1 項記載の分解性ゲル。

【請求項 6】 架橋剤が、1 分子当り 2 個以上のエポキシ基を有するエポキシ化合物である請求項 5 記載の分解性ゲル。

【請求項 7】 エポキシ化合物が、エチレングリコールジグリシジルエーテルである請求項 6 記載の分解性ゲル。

【請求項 8】 下記工程を有することを特徴とする飽和含水率が 98 重量%以下である分解性ゲルの製造方法。

(第 1 工程) 分解性ゲルの原料化合物を、水系溶媒に重量比で 20～80 重量%の範囲になるよう溶解させ、分解性ゲル原料溶解液を調製する。

(第 2 工程) 分解性ゲル原料溶解液に架橋剤を添加し、分解性ゲルの原料を架橋する。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、分解性ゲル及びその製造方法に関する。

【0002】

【従来の技術】

分解性を持つ材料は、医療、食品、化粧品、農業等の広範囲な分野に利用されている。なかでも、ヒアルロン酸に代表されるアニオン性多糖は、その多くが生

分解性を有していることから、これを主成分とするゲルは、様々な機能材料の徐放に利用できることが期待されている。

これらアニオン性多糖をエチレングリコールジグリシジルエーテル、ジビニルスルホン等の架橋剤で架橋した架橋物の製造方法が知られている（例えば、特許文献 1、特許文献 2 参照）。

しかしながら、これらの架橋物は、何れもその飽和含水率が 9 9 重量%と高いことから、脆弱であった。特に生体内で使用する場合には、生体内の活性酸素や酵素によって容易に分解されるといった問題があった。多糖を主成分とするゲルの他には、コラーゲンやゼラチンのゲルがある。しかしながら、近年、牛海綿状脳症（B S E）の発生以来、動物由来の材料が敬遠される傾向がある。さらにコラーゲンやゼラチンのゲルは生体内に導入すると炎症を惹起する場合があった。

【 0 0 0 3 】

【特許文献 1】

特開平 5 - 2 2 9 9 3 4 号公報

【特許文献 2】

米国特許第 4 , 6 0 5 , 6 9 1 号公報

【 0 0 0 4 】

【発明が解決しようとする課題】

本発明の課題は、容易に分解されず、且つ十分な強度を有する分解性ゲル及びその製造方法を提供することである。

【 0 0 0 5 】

【課題を解決するための手段】

本発明者らは、先述の課題に鑑み鋭意研究を重ねた。その結果、分解性ゲルの原料を高濃度で、かつ低粘度で水系溶媒に溶解させた後、架橋剤で架橋させることでゲルの飽和含水率を大幅に下げられること、さらにこのようにして得られた分解性ゲルは、容易に分解されず、且つ十分な強度を有することを見出し、この知見に基づいて本発明を完成させた。

【 0 0 0 6 】

本発明は、以下の構成を有する。

〔1〕 飽和含水率が 98 重量%以下である分解性ゲル。

〔2〕 分解性ゲルが、多糖ゲルである前記〔1〕項記載の分解性ゲル。

〔3〕 多糖ゲルが、アニオン性多糖ゲルである前記〔2〕項記載の分解性ゲル。

。

〔4〕 アニオン性多糖ゲルが、ヒアルロン酸ゲルである前記〔3〕項記載の分解性ゲル。

〔5〕 分解性ゲルが、架橋剤を用いた架橋反応によって得られるゲルである前記〔1〕～〔4〕のいずれか 1 項記載の分解性ゲル。

〔6〕 架橋剤が、1 分子当たり 2 個以上のエポキシ基を有するエポキシ化合物である前記〔5〕項記載の分解性ゲル。

〔7〕 エポキシ化合物が、エチレングリコールジグリシジルエーテルである前記〔6〕項記載の分解性ゲル。

〔8〕 下記工程を有することを特徴とする飽和含水率が 98 重量%以下である分解性ゲルの製造方法。

（第 1 工程）分解性ゲルの原料化合物を、水系溶媒に重量比で 20～80 重量%の範囲になるよう溶解させ、分解性ゲル原料溶解液を調製する。

（第 2 工程）分解性ゲル原料溶解液に架橋剤を添加し、分解性ゲルの原料を架橋する。

【0007】

【発明の実施の形態】

本発明の分解性ゲルは、98 重量%以下の飽和含水率を有することが特徴である。この飽和含水率をこの範囲内にするためには、分解性ゲルは、架橋剤を用いた架橋反応によって架橋されていることが特に好ましい。本発明の分解性ゲルの飽和含水率は、好ましくは 96 重量%以下、より好ましくは 93 重量%以下、さらに好ましくは 89 重量%以下である。飽和含水率の下限は特に限定されるものではなく、好ましくは 50 重量%以上、より好ましくは 60 重量%以上、さらに好ましくは 70 重量%以上、特に好ましくは 80 重量%以上である。本発明でいう飽和含水率は、 $(\text{湿潤ゲルの質量} - \text{乾燥ゲルの質量}) / \text{湿潤ゲルの質量} \times 100$ の式により求められる、ゲル中の水の百分率のことである。また、湿潤ゲルの

質量とは 2 5 ℃ にて純水中で平衡に達した状態での質量のことである。ここで、平衡に達した状態とは、純水中に 1 0 0 時間放置した状態の湿潤ゲルの状態をいう。

【 0 0 0 8 】

分解性ゲルとは、生体内のような湿潤環境下において分解する性質を有するゲルであり、該環境下において分解する高分子化合物と架橋剤により構成されるゲルであるか、高分子化合物と架橋剤との結合部位が分解するゲルである。上記環境下で分解し、本発明の分解性ゲルの原料に用いることができる高分子化合物は、アニオン性多糖、カチオン性多糖、デキストラン、キトサン、リボ核酸、デオキシリボ核酸等である。本発明においては、特にアニオン性多糖が好ましい。本発明に用いる分解性ゲルは複数の高分子化合物により構成されてもよい。また、架橋剤を用いる場合であっても複数の高分子化合物を用いてもよい。

【 0 0 0 9 】

アニオン性多糖とは、カルボキシル基、硫酸基等を持つことから負電荷を有する多糖であり、さらにこれらの塩を含む。具体的には、アニオン性多糖は、カルボキシメチルセルロース、セロウロン酸、アルギン酸、アルギン酸塩、ポリガラクトチュロン酸、ポリガラクトチュロン酸塩、グリコサミノグリカン等である。グリコサミノグリカンは、ヘパリン、ヘパラン硫酸、デルマタン硫酸、コンドロイチン硫酸、コンドロイチン、ヒアルロン酸及びその塩等である。これらは、単独で利用するだけでなく、混合物としても利用できる。本発明においては、グリコサミノグリカンが好ましく使用でき、なかでもヒアルロン酸またはその塩（以下、「ヒアルロン酸（塩）」ということがある。）が特に好ましく利用できる。

【 0 0 1 0 】

本発明において、分解性ゲルの原料化合物としてヒアルロン酸（塩）を用いる場合には、H P L C 法により測定されるヒアルロン酸（塩）の平均分子量は、5 0 0 k D a 以下であることが好ましく、より好ましくは 3 0 0 k D a 以下である。前記平均分子量がこの範囲内にあることで、以下の条件下で架橋を行った場合に飽和含水率の低いゲルが好適に得られる。

【 0 0 1 1 】

本発明に用いる架橋剤は、エチレングリコールジグリシジルエーテル、ポリエチレングリコールジグリシジルエーテル、エピクロルヒドリン、トリメチロールプロパンポリグリシジルエーテル、ネオペンチルグリコールジグリシジルエーテル、グリセロールポリグリシジルエーテル、ポリプロピレングリコールジグリシジルエーテル、ソルビトールポリグリシジルエーテル等の1分子当り2個以上のエポキシ基を有するエポキシ化合物、グルタルアルデヒド、テレフタルアルデヒド等の1分子当り2個以上のエポキシ基を有するアルデヒド、エチレングリコール、プロピレングリコール等の多価アルコールが挙げられる。そのなかでも本発明においては、1分子当り2個以上のエポキシ基を有するエポキシ化合物が好ましく利用でき、なかでもエチレングリコールジグリシジルエーテルが好ましく利用できる。架橋剤の添加量は、架橋剤と反応する官能基に対して、好ましくは0.01～10当量、より好ましくは0.05～5当量にすればよい。

【0012】

本発明の飽和含水率が98重量%以下である分解性ゲルの製造は、大別すると下記2工程からなる。

第1工程は、分解性ゲルの原料化合物を、水系溶媒に重量比で20～80重量%の範囲に溶解させる、分解性ゲル原料溶解液を調製する工程であり、第2工程は、分解性ゲル原料溶解液に架橋剤を添加し、分解性ゲルの原料を架橋する工程である。

【0013】

分解性ゲルの原料化合物として、アニオン性多糖をゲル化させるためには、アニオン性多糖を水系溶媒に溶解させた後、架橋を行うとよい。水系溶媒としては、アルカリ水溶液を用いることができ、その濃度は、1分子当り2個以上のエポキシ基を有するエポキシ化合物による架橋が十分に進行できる濃度であれば、特に限定されないが、例えば、水酸化ナトリウム水溶液の場合には、好ましくは、0.01～10mol/lであり、より好ましくは、0.1～5mol/lである。ヒアルロン酸（塩）を前記濃度の水酸化ナトリウム水溶液に溶解させるためには、水溶液中のヒアルロン酸（塩）の濃度は、20重量%以上であることが好ましく、より好ましくは20～50重量%であり、さらに好ましくは30～50

重量%である。ヒアルロン酸（塩）の濃度を調節し、得られるヒアルロン酸（塩）溶液の粘度を、 $5 \times 10^4 \text{ mPa} \cdot \text{s}$ 以下、好ましくは $1 \times 10^4 \text{ mPa} \cdot \text{s}$ 、より好ましくは $5 \times 10^3 \text{ mPa} \cdot \text{s}$ 以下になるようにするとよい。アニオン性多糖を 20 重量%以上の濃度で溶媒に溶解させた場合には、溶液の粘度は、 $2 \times 10^4 \text{ mPa} \cdot \text{s}$ 以下になる。すなわち、粘度が、 $5 \times 10^4 \text{ mPa} \cdot \text{s}$ 以下であれば、脱泡し易く、架橋剤が均一に混ざり合うために、均一なゲルが得られる。

【0014】

ヒアルロン酸－エポキシ化合物ゲルの製造を例にして分解性ゲルの製造法を示す。

平均分子量が 500 kDa 以下、好ましくは 300 kDa 以下のヒアルロン酸を、 $0.01 \sim 10 \text{ mol/l}$ 、好ましくは $0.1 \sim 5 \text{ mol/l}$ の濃度の水酸化ナトリウム水溶液に、 $20 \sim 80$ 重量%の濃度、好ましくは $30 \sim 50$ 重量%の濃度になるように溶解する。得られた粘濁溶液をアスピレータで脱気する。これに 1 分子当り 2 個以上のエポキシ基を有するエポキシ化合物、好ましくはエチレングリコールジグリシジルエーテルをヒアルロン酸の二糖単位に対し、 $0.1 \sim 10$ 当量、好ましくは $0.5 \sim 5$ 当量を加え攪拌する。これを直ちに所定の型にキャストし、恒温槽で加温し、架橋反応させ、ゲルを形成させる。恒温槽の温度は、 $50 \sim 100^\circ\text{C}$ 、好ましくは $60 \sim 80^\circ\text{C}$ である。加温時間は 10 分以上、好ましくは 10 分～24 時間である。型から取り出したゲルは HCl 水溶液等の酸性溶液で十分に中和し、蒸留水またはこれに相当する純水で洗浄置換する。本発明において、蒸留水に相当する純水とは、例えば、連続イオン交換（Electric Deionization）及び逆浸透（Reverse Osmosis）等により精製した水を意味する。必要であれば、リン酸緩衝液や生理食塩水等に置換して使用する。

【0015】

本発明の分解性ゲルの用途は特に限定されるものではないが、医薬品、食品、化粧品分野等に用いられる各種材料として使用可能である。分解性ゲルが生体内分解性であれば、飽和含水率を選ぶことにより生体内での分解速度を制御でき、さらに体内で代謝されるため、例えば、手術時等の保湿剤、潤滑剤、創傷被覆剤

、DDS（ドラッグデリバリーシステム）材料等の医薬分野で用いることが可能である。なかでもその子宮内における分解速度が、人体（子宮）内のバイオリズムと高い相関性を示すと考えられていることから、例えば子宮内膜症治療薬を担持する子宮内または腔内埋植用製剤のデバイスとして極めて有効に利用できる。

【0016】

【実施例】

以下、実施例をもって本発明を詳細に説明する。

【0017】

1) HPLCによる平均分子量の測定

多糖類の分子量測定に適する任意のカラムを用いることができるが、多糖がヒアルロン酸（塩）であれば、例えば、昭和電工（株）製 Shodex Ionpak KS806（商品名）及び昭和電工（株）製 Ionpak KS-G（商品名）等のカラムを用いることが好ましい。本発明の実施例、比較例においては、昭和電工（株）製 Shodex Ionpak KS806（商品名）及び昭和電工（株）製 Ionpak KS-G（商品名）を用いた。この場合、溶出液としては 0.2 mol/l の塩化ナトリウム水溶液を用い、流速 1.0 ml/分 で流した。なお、ヒアルロン酸（塩）の検出は 206 nm で行った。平均分子量は、極限粘度で求めた分子量既知のヒアルロン酸ナトリウムで作製した検量線を用いて計算により求めることができる。

2) 粘度の測定

分解性ゲル原料溶解液の粘度は、回転粘度計で測定することができる。本発明の実施例、比較例においては、（株）トキメック製 VISCONIC EHD（商品名）を用いて温度 25℃、回転数 0.5～100 rpm の条件で測定した。

【0018】

以下にヒアルロン酸－エチレングリコールジグリシジルエーテルゲル（以下、「CHA-EGDGEゲル」ということがある。）の製造例を示す。

【0019】

実施例 1～5 及び比較例 1、2

1. CHA-EGDGEゲルの製造

ヒアルロン酸ナトリウム（チッソ（株）製 CHA、以下、「CHA」ということがある。）を 1 mol/l の水酸化ナトリウム水溶液にスパーテルで攪拌し溶解させ、アスピレータで脱泡した。これにエチレングリコールジグリシジルエーテル（和光純薬製工業（株）製 Quietol 651（商品名）、以下、「EGDGE」ということがある。）とエタノールの混合液を加え攪拌した。得られた粘濁溶液を直ちにテフロン（登録商標）製の直径 15 mm 、深さ 2 mm の円盤状の型にキャストし、スライドガラスにて蓋をし、恒温槽にて 80°C で加温した。得られたゲルを 0.05 mol/l の HCl を含むエタノール 50 重量%水溶液にて 1 時間中和した。さらにエタノール 50 重量%水溶液で洗浄して、純水に置換し、ゲルを得た（以下、このゲルを「HA-EGDGEゲル」ということがある。）。CHAの投入量、分子量、水酸化ナトリウム水溶液の容量、EGDGE、エタノールの投入量、加温時間及び飽和含水率は表1の通りである。実施例1～5及び比較例1、2は均一で透明なゲルであった。CHAの 1 mol/l 水酸化ナトリウム溶液の粘度の結果は、表2に示した。

【0020】

2. CHA-EGDGEゲルのヒアルロニダーゼによる分解実験

CHA-EGDGEゲル（実施例1～4、比較例1、2）をヒアルロニダーゼ（牛睾丸由来 シグマ製タイプIV-S） 10 unit/ml を含有する $\text{pH } 4.5$ の 0.14 mol/l PBS 25 ml に浸漬させた。定期的にヒアルロニダーゼ含有PBSを交換しCHA-EGDGEゲルの重量変化を測定した。図1はゲルの分解量の累積値を経時的にプロットしたものであり、時間に対してリニアに分解しており、これらのゲルの分解が表面から起きていたことが分かる。図2はゲルの分解の線速度と飽和含水率の関係を示したものであり、飽和含水率と線速度との間に指数関数的な相関があることが分かる。また、飽和含水率を下げることで、分解速度を格段に遅くすることができる。すなわち実施例2～5の分解の線速度は比較例1、2に対し $1/3 \sim 1/100$ 程度になっており、実施例1は4ヶ月間でも分解していなかった。また、実施例1～5のゲルは比較例1、2に比べ遥かに丈夫であり、不意に破断することなく取り扱いが容易であった。

【0021】

3. CHA-EGDGEゲルの活性酸素（ヒドロキシラジカル）による分解実験

CHA-EGDGEゲル（実施例1～4）を50mmol/l 硫酸鉄（II）に2日間浸漬後、5mmol/l 過酸化水素水溶液に浸漬、25℃で振とうさせ、定期的に重量を測定し、分解の線速度を測定した。図3は分解の線速度と飽和含水率との関係をプロットしたものであり、酵素による分解同様、飽和含水率と線速度とに指数関数的な相関があり、飽和含水率を下げることで、分解速度を格段に遅くすることができることがわかる。

【0022】

【表1】

	CHA 分子量 (kDa)	CHA 投入量 (g)	NaOH 水溶液 (ml)	EGDGE (mg)	エタノール (ml)	加温温度 (℃)	加温時間 (min)	飽和含水率 (%)
実施例1	90	1.5	3.5	870	0	80	20	86
実施例2	90	1.5	3.5	870	0	80	15	89
実施例3	90	1.5	3.5	870	0	80	14	94
実施例4	90	1.5	3.5	870	0	80	12	98
実施例5	230	1.5	3.5	870	0.1	80	15	93
比較例1	1000	0.75	4.25	435	0.1	80	15	99.6
比較例2	1000	0.75	4.25	435	0.1	80	30	99.5

【0023】

【表2】

CHA濃度(重量%)	分子量(kDa)		
	90	230	1000
15(回転数)		287mPa・s(50rpm)	26500mPa・s(1.0rpm)
30(回転数)	957mPa・s(50rpm)	9260mPa・s(2.5rpm)	

【0024】

【発明の効果】

本発明の分解性ゲルを用いることにより、酵素による分解時間を飛躍的に延ばせるようになった。また、従来の分解性ゲルに比べ丈夫なゲルが作れるようになり、産業上の応用範囲が広がった。

【図面の簡単な説明】

【図 1】

CHA-EGDGE ゲルの累積分解量の経時変化を示すグラフ

【図 2】

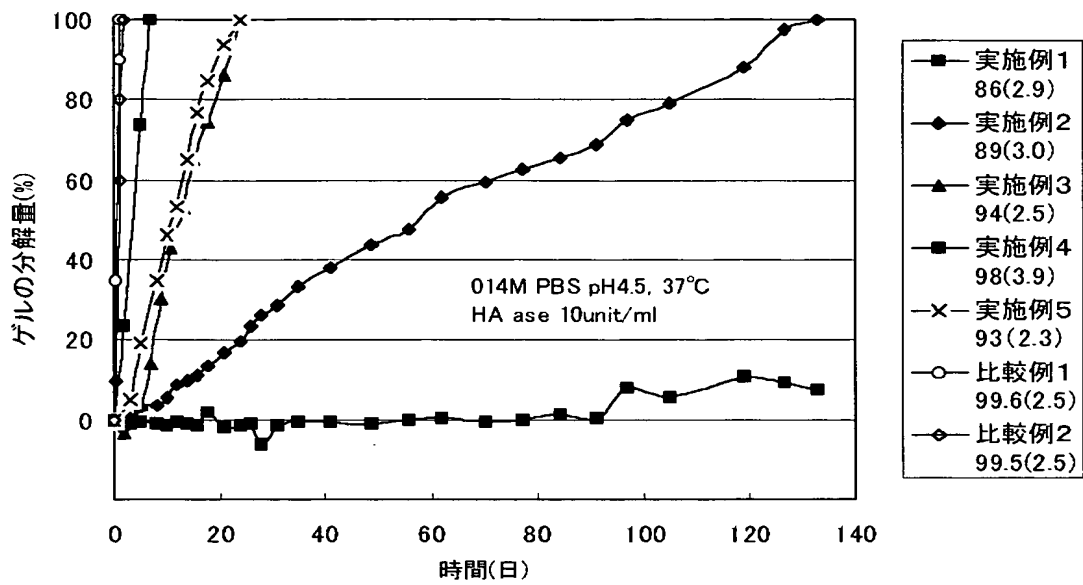
CHA-EGDGE ゲルの分解の線速度と飽和含水率の関係を示すグラフ

【図 3】

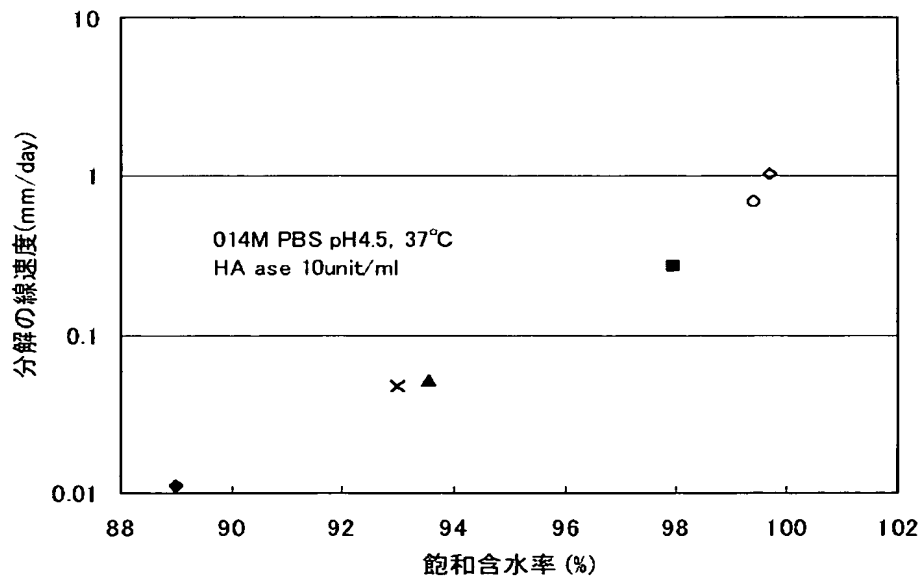
CHA-EGDGE ゲルの活性酸素分解実験における飽和含水率と分解の線速度の関係を示すグラフ

【書類名】 図面

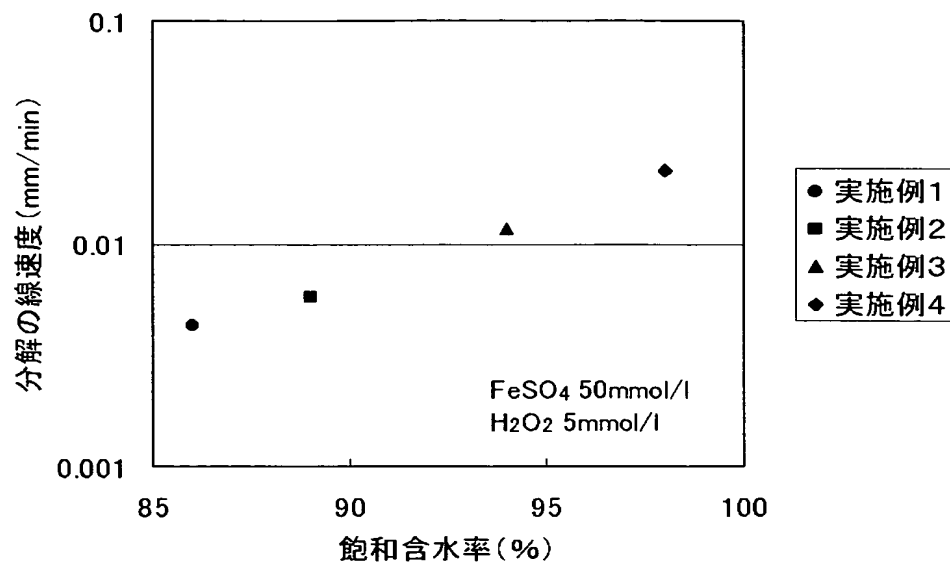
【図1】



【図2】



【図 3】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 容易に分解されず、且つ十分な強度を有する分解性ゲル及びその製造方法を提供すること。

【解決手段】 飽和含水率が 9 8 重量％以下である分解性ゲルによる。

【選択図】 なし

認定・付加情報

特許出願の番号	特願 2 0 0 3 - 1 2 2 8 6 0
受付番号	5 0 3 0 0 7 0 5 7 1 7
書類名	特許願
担当官	鈴木 夏生 6 8 9 0
作成日	平成 1 5 年 9 月 1 6 日

< 認定情報・付加情報 >

【特許出願人】	申請人
【識別番号】	000002071
【住所又は居所】	大阪府大阪市北区中之島 3 丁目 6 番 3 2 号
【氏名又は名称】	チッソ株式会社
【特許出願人】	
【識別番号】	594173175
【住所又は居所】	石川県能美郡辰口町松が岡 4 - 1 0 3
【氏名又は名称】	由井 伸彦

特願 2 0 0 3 - 1 2 2 8 6 0

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [0 0 0 0 0 2 0 7 1]

1. 変更年月日 1 9 9 0 年 8 月 2 3 日

[変更理由] 新規登録

住 所 大阪府大阪市北区中之島 3 丁目 6 番 3 2 号

氏 名 チッソ株式会社

特願 2 0 0 3 - 1 2 2 8 6 0

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [5 9 4 1 7 3 1 7 5]

1. 変更年月日 2 0 0 0 年 4 月 5 日
[変更理由] 住所変更
住 所 石川県能美郡辰口町松が岡 4 - 1 0 3
氏 名 由井 伸彦